Aus der Universitäts-Augenklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. W. Straub

Der Einfluß von cornealen Contact- Linsen und "künstlichem Epithel" auf den Hornhautstoffwechsel des Kaninchens

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Helga Schebitz
geb. Schulz- Lauterbach
aus Gmund am Tegernsee

Marburg/Lahn 1972

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

Aus der Universitäts-Augenklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. W. Straub

Der Einfluß von cornealen Contact- Linsen und "künstlichem Epithel" auf den Hornhautstoffwechsel des Kaninchens

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Helga Schebitz
geb. Schulz - Lauterbach
aus Gmund am Tegernsee

Marburg/Lahn 1972

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 1.8.1972

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. med. M. Reim

Correferent: Prof. Dr. med. W. Straub

Gedruckt mit Unterstützung des
"Marburger Universitätsbundes"

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Einleitung	1
	1. Anatomie	1
	a. Epithel	1
	b. Stroma	1
	c. Endothel	2
	2. Physiologie und Biochemie	2
	a. Hydratation	3
	b. Sauerstoff	4
	c. Glucose und Lactat	4
	3. Contact-Linsen	6
	a. Klinik	6
	b. Physiologie und Biochemie	7
	4. Künstliches Epithel	8
	a. Klinik	8
	b. Physiologie und Biochemie	9
II.	Fragestellung	10
III.	Methodik	11
	1. Narkose	11
	2. Contact-Linsen	11
	a. Vermessung	11
	b. Anpassung	11
	3. Künstliches Epithel	12
	4. Präparation des Epithels	13
	a. Abrasio des normalen Hornhautepithels	
	b. Abrasio des Epithels unter Contact-Linsen	

Seite

5. Präparation des Stromas

a. Präparation des normalen Hornhautstromas 13
b. Präparation des Stromas unter Contact-Linsen 14
c. Präparation des Stromas unter künstlichem Epithel 14

6. Extraktion der Gewebestücke 14

7. Bestimmung der Metabolitkonzentrationen mittels enzymatisch-optischer Tests 15

a. Reaktionen 15
b. Testansätze 16
c. Berechnung der Metabolitkonzentrationen 17

8. Hydratation 18

9. Statistische Auswertung der Ergebnisse 19

IV. Ergebnisse 20

1. Klinische Beobachtungen 20

2. Die Metabolite des normalen Hornhautepithels und des Epithels unter Contact-Linsen 20

3. Die Metabolite des normalen Hornhautstromas und des Stromas unter Contact-Linsen 22

4. Die Metabolite des Hornhautstromas unter einem künstlichen Epithel 26

V. Diskussion 28

1. Betrachtung der Ergebnisse im Epithel unter Contact-Linsen 28

2. Betrachtung der Ergebnisse im Stroma unter Contact-Linsen 32

3. Betrachtung der Ergebnisse unter einem künstlichen Epithel 36

4. Die Bedeutung der Versuchsergebnisse für den Menschen 36

Seite

VI. Zusammenfassung 38

VII. Anhang

1. Abkürzungen
2. Tabellarischer Anhang
3. Literaturverzeichnis

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546005_0103

I. Einleitung

Das Auge ist ein kompliziert gebauter Apparat, der Mensch und Tier den Kontakt zur Umwelt ermöglicht. Einen wesentlichen Beitrag leistet hierzu die Hornhaut, deren Erkrankungen deshalb von besonderem klinischen Interesse sind.
Zusammen mit der Sklera bildet die Hornhaut eine bindegewebige Schutzhülle um das Auge. Auch als Teil des optischen Apparates hat die Cornea eine wichtige Funktion zu erfüllen. Die weitgehende Konstanz von Dicke, Krümmung und Transparenz ist Bedingung für exakte Abbildungen auf der Netzhaut.

1. Anatomie

Mikroskopisch kann man in der Hornhaut drei Schichten unterscheiden: Epithel, Stroma und Endothel.

a. Epithel

Das Epithel ist ein mehrschichtiges Plattenepithel. Es ist sehr regenerationsfähig und stellt eine Diffusionsbarriere für Metabolite, Elektrolyte und Wasser zwischen Tränenfilm und Stroma dar. Die unterste Zellschicht, die der Basalmembran aufliegt, wird von zylindrischen Basalzellen gebildet. Zur Oberfläche hin werden die Zellen flacher. Sie stehen durch Desmosomen miteinander in Verbindung (JAKUS 1961, PEDLER 1962). Elektronenmikroskopisch lassen sich in diesen Zellen gut entwickelte Golgi-Apparate, endoplasmatisches Retikulum und nur wenig Mitochondrien nachweisen (ROHEN 1964). Die Basalzellen sind reich an Glykogen, das eine Energiereserve der Hornhaut darstellt (CALMETTES, DEODATI, PLANEL und BEC 1956, TURSS 1970).

b. Stroma

Das Stroma besteht in der Hauptsache aus Kollagenfibrillen, die in Lamellen gebündelt sind und sich schichtweise

unter verschiedenen Winkeln kreuzen (JAKUS 1961, ROHEN 1964). Sie sind in eine Grundsubstanz aus Mucopolysacchariden eingebettet (SMELSER und OZANICS 1953), die die Fähigkeit besitzt, Wasser zu binden und dadurch den Schwellungsdruck des Stromas erzeugt (MAURICE 1957). Der normale Wassergehalt des Stromas beträgt 76% - 78% (FISCHER 1933, DUANE 1949, DAVSON 1955, HARRIS und NORQUIST 1955, LANGHAM und TAYLOR 1956, HARA 1969 und TURSS, FRIEND, REIM und DOHLMAN 1971). Eine Zunahme des Wassergehaltes hat eine Einschränkung der Hornhauttransparenz zur Folge, die durch Veränderung des Verhältnisses von Kittsubstanz zu Fibrillen zustandekommt. Die Stromazellen, die Keratozyten, machen nur ein Teil des Stromavolumens aus. Nach neueren Untersuchungen sind es 12% der Trockensubstanz (KAYE 1969).

c. Endothel

Das Endothel ist eine einzellige Schicht aus dünnen polygonalen Zellen, die durch die Descemet'sche Membran vom Stroma getrennt sind. Elektronenmikroskopisch enthalten die Zellen viele Mitochondrien, ein ausgeprägtes endoplasmatisches Retikulum und pinocytotische Bläschen, die nach JAKUS 1961 und STRAUBESAND 1962 für einen aktiven Flüssigkeitstransport sprechen. Die größeren Interzellularspalten könnten für die Diffusion von Substraten aus dem Kammerwasser eine Rolle spielen (MAURICE 1953).

2. Physiologie und Biochemie der Hornhaut

Da die Hornhaut gefäßlos ist, ist ihre Ernährung ein besonderes wissenschaftliches Problem und nicht so offenbar wie bei blutgefäßversorgten Geweben.
Daß vielfältige Stoffwechselwege in den Hornhautschichten möglich sind, konnte durch quantitative Analysen vieler Substrate (HERRMANN und HICKMAN 1948, de ROETTH 1951, LANGHAM 1952 und 1954, SMELSER und CHEN 1955, MORLEY und TOTH 1961, REIM, SCHMIDT und MEYER 1966, REIM, LAX, LICHTE und TURSS 1967, TURSS, FRIEND und DOHLMAN 1970 u. a.) und

Messungen von Enzymaktivitäten gezeigt werden.
Im Epithel sind besonders viele Stoffwechselprodukte der anaeroben Glykolyse, des aeroben Hexosephosphat - shuntes und des Citronensäurecyklus nachgewiesen worden (HERRMANN und HICKMAN 1948, LANGHAM 1954, KINOSHITA und MASURAT 1954, KUHLMAN und RESNIK 1959, DELBRÜCK 1963, REIM 1966).

a. Hydratation

Durch Messung des Respirationsquotienten der Cornea (Sauerstoffverbrauch und Bildung von CO_2) haben de ROETTH 1950, LANGHAM 1952, HEALD und LANGHAM 1956, HILL und FATT 1963, TAKAHASHI und FATT 1965, FATT 1968 und FATT und BIEBER 1968 gezeigt, daß die Stoffwechselaktivität in der Hornhaut und besonders im Epithel sehr hoch ist. Bei Störungen dieses Stoffwechsels z. B. durch Sauerstoffmangel, wie er unter Contact-Linsen denkbar ist, oder durch Defekte im Epithel und Endothel (MAURICE und GIARDINI 1951, LANGHAM und TAYLOR 1956 und MISHIMA und HEDBYS 1967) hat man innerhalb kurzer Zeit ein Oedem der Cornea durch Wassereinstrom aus der umgebenden Flüssigkeit beobachtet. Schon eine geringe Erhöhung des Wassergehaltes des Stromas um etwa 5 - 10% reicht nach MAURICE 1957 aus, daß die Hornhaut trüb wird und es zu einer Streuung des Lichtes kommt. Zur Aufrechterhaltung der Transparenz d. h. der normalen Hydratation der Hornhaut ist Energie nötig, die wahrscheinlich hauptsächlich bei der direkten Oxydation von Glucose frei wird (SMELSER 1952, SMELSER und OZANICS 1953 und LANGHAM und TAYLOR 1956). Nach HARRIS und NORQUIST 1959, MAURICE und MILLS 1959 und GREEN 1969 ist die Funktion der Grenzschichten, Epithel und Endothel, zur Aufrechterhaltung von Membranpotentialen für Ionen erforderlich. Außerdem müssen diese Schichten einen gewissen Widerstand gegen die Diffusion von Wasser leisten. HARRIS 1957 und MAURICE 1966 glauben, daß in Epithel und Endothel eine "metabolische Pumpe" betrieben wird, die ständig Wasser in die angrenzenden Flüssigkeiten transportiert. Mit dem sogenannten "temperature reversal effect" zeigten DAVSON 1955 und HARRIS und NORQUIST 1955, daß die Pumpe vom energieliefern-

den Stoffwechsel abhängig ist. Die Cornea schwillt bei einer Abkühlung auf 4° - 7° C an und wird trüb. Das wird mit der Inaktivierung enzymatischer Stoffwechselprozesse in der Kälte erklärt, da dieser Prozeß bei einer Wiedererwärmung der Hornhaut auf 31° - 37° C unter Anwesenheit von Sauerstoff reversibel ist. Es scheint, daß die Pumpe hauptsächlich im Endothel lokalisiert ist, da dieser Effekt auch bei abradiertem Epithel, aber nicht bei Fehlen des Endothels erreicht werden kann (MISHIMA und KUDO 1967).

b. Sauerstoff

Der größte Teil des Sauerstoffes, der für die Oxydationsprozesse notwendig ist, wird vom Epithel bei offenem Auge über den Tränenfilm aus der Atmosphäre aufgenommen und in die Hornhaut transportiert (LANGHAM 1952, SMELSER 1952). 20% des Sauerstoffes kommen nach RILEY 1969 aus dem Kammerwasser, das eine ähnliche Sauerstoffspannung wie das Blut hat (HEALD und LANGHAM 1956). CO_2 soll über die Oberfläche des Epithels in die Atmosphäre abgegeben werden (FATT und BIEBER 1968). Bei geschlossenem Auge wird die Cornea über die conjunktivalen Gefäße mit Sauerstoff versorgt und ist nach Messungen von HILL und FATT 1963 und 1964, TAKAHASHI und FATT 1965 immer noch einem Sauerstoffpartialdruck von 55 mm Hg ausgesetzt. Dieser Druck reicht aus, um die normale Hydratation der Hornhaut aufrechtzuerhalten. Erst bei einer Sauerstoffspannung unter 11 - 19 mm Hg soll sich ein Epithel- und Hornhautoedem entwickeln (POLSE und MANDELL 1970). FATT 1968 glaubt, daß Endothel und Stroma unterhalb des kritischen Partialdruckes aus dem Kammerwasser mit Sauerstoff versorgt werden, und daß der Sauerstoffbedarf des Epithels auf diesem Wege allein nicht gedeckt werden kann.

c. Glucose und Lactat

Die Ernährung der Hornhaut ist theoretisch über drei Wege möglich: über die perilimbalen Gefäße, den Tränenfilm oder

das Kammerwasser.
Daß die Tränen für die Ernährung der Hornhaut mit Glucose eine Rolle spielen, erscheint unwahrscheinlich, da die Glucosekonzentration in den Tränen ungefähr 10 mal niedriger ist als im Kammerwasser und Blut. Außerdem ist der Diffusionswiderstand des Epithels für Glucose viel größer als der des Endothels (HALE und MAURICE 1969). Nach MAURICE 1960 ist die Diffusion innerhalb der Hornhaut z. B. für Fluorescin in allen Richtungen gleich. Da aber das Verhältnis Hornhautradius zu Hornhautdicke ungefähr 15 : 1 ist, erscheint die Ernährung der zentralen Hornhaut durch das Randschlingennetz fraglich. MAURICE 1966 glaubt deshalb, daß das Kammerwasser der wahrscheinlichste Lieferant für die Nährstoffe in der Hornhaut ist.

Die Abhängigkeit des Epithels von der Glucoseversorgung durch das Kammerwasser wurde von TURSS, FRIEND und DOHLMAN 1970 mit einer intralamellären, glucose- und wasserundurchlässigen Membran untersucht. Als erste histochemische Veränderung tritt vor der intralamellären Membran innerhalb von 24 Stunden eine Glykogenverarmung des Epithels auf, die über einem zentralen Loch in der Membran ausbleibt. Glucose und Glykogen sinken vor der Membran um ca. 50% ab. Das von MAURICE 1969 vorhergesagte und berechnete Absinken von Glucose vor einer intralamellären Membran im Stroma konnte quantitativ gemessen werden (TURSS, FRIEND, REIM und DOHLMAN 1971). Die Tatsache eines Glucose - Gradienten vom Blut zum Kammerwasser und zur Hornhaut, den TURSS, FRIEND, REIM und DOHLMAN 1971 fanden, unterstützt die These, daß das Kammerwasser der wahrscheinlichste Glucoselieferant der Hornhaut ist.,
Diese Tatsache ist für den Kliniker von besonderer Bedeutung und erklärt Komplikationen, die nach Implantationen von künstlichen Endothelien, intralamellären Membranen und Verwendung von wasserundurchlässigen Scheiben zur Halterung von Keratoprothesen gesehen wurden.
REIM, CATTEPOEL, BITTMANN und KILP 1969 fanden ein der Glucose entgegengesetztes Konzentrationsgefälle für Lactat und Pyruvat von der Hornhaut zum Kammerwasser und Blut hin.

Nach RILEY 1969 stammen 85% des im Stroma gemessenen Lactats aus dem anaeroben Abbau und 15% aus direkter Oxydation. Mit Hilfe von C_1- und C_6- markierter Glucose fanden KINOSHITA und MASURAT 1959, daß 66% der Glucose über die Glykolyse und nur 33% über den Hexosephosphat - shunt abgebaut werden.
Nach HERRMANN und HICKMAN 1948 ist die Lactatproduktion im Stroma und Epithel ungefähr gleich. Sie zeigten in in-vitro Versuchen, daß das Epithel Lactat aus dem Stroma metabolisieren kann. RILEY 1969 fand im Epithel von Katzenhornhäuten eine 4 - 5 mal aktivere Lactatproduktion als in der übrigen Hornhaut. Auch LANGHAM 1954 zeigte, daß die Lactatproduktion im Epithel höher als im Stroma ist.

3. Contact-Linsen

a. Klinik

Obwohl schon vor 100 Jahren in Deutschland Versuche mit dem Auge aufliegenden Glasschalen zur Korrektur von Sehfehlern gemacht wurden, fand die Haftschale oder Contact-Linse erst nach dem 2. Weltkrieg von den USA ausgehend weite Verbreitung. Dies mag daran liegen, daß die heute üblichen Corneal-Linsen dünner, kleiner und aus Kunststoff sind, auf dem Tränenfeld schwimmen und deshalb subjektiv und objektiv von vielen Patienten besser vertragen werden. Allerdings ist auch heute noch Hornhauterosion durch Contact-Linsen ein häufiger Grund für die Konsultation eines Augenarztes.
90% aller Contact-Linsenträger tragen die Haftschalen aus Eitelkeit (Le CONTACT, Februar 1965), d.h. eine Brille hat bei diesen Patienten außer der Beschränkung des Gesichtsfeldes durch das Gestell keine Nachteile. Bei den restlichen 10% der Patienten liegt eine medizinische Indikation zum Tragen von Haftschalen vor. Bei irregulärem und hohem Astigmatismus bringen sie eine erhebliche Visusverbesserung, z.B. auch bei Keratokonus. Bei letzterem sollen sie auch einen therapeutischen Effekt haben, d.h. die Progredienz des

Keratokonus verzögern. Bei Anisometropie, wie z. B. bei der einseitigen Aphakie, wird durch Annäherung der Abbildungsgrößen beidäugiges Sehen ermöglicht. In Fällen von hoher Myopie und Hyperopie wird die Sehkraft verbessert, das Gesichtsfeld erweitert,und Randverzerrungen, wie sie bei Brillenkorrekturen in diesem Falle unvermeidlich sind, entfallen weitgehend. Außerdem entfällt die Verfälschung der Bildgröße durch den Lupen- bzw. Zerstreuungslinseneffekt von Gläsern höherer Dioptrienzahl. Die heute gebräuchlichste Contact-Linse ist die Methylmethacrylat-Linse. Die in der Tschechoslowakei entwickelte Gel-Linse und die Silikon-Linse haben bei uns noch keine Verbreitung gefunden.

b. Physiologie und Biochemie

SMELSER 1952, SMELSER und OZANICS 1952, HARRIS und NORQUIST 1955, SMELSER und CHEN 1955, LANGHAM und TAYLOR 1956 u. a. haben in vivo und vitro gezeigt, daß die Aufrechterhaltung der normalen Hornhauthydratation vom Sauerstoffangebot abhängig ist. Die heute gebräuchliche Methylmethacrylat-Linse ist für Sauerstoff undurchlässig und schränkt so den direkten Kontakt des atmosphärischen Sauerstoffes mit der Oberfläche des Epithels ein.
FATT 1969 gelang es, die Sauerstoffspannung mit Hilfe von Microelectroden unter Contact-Linsen zu messen. Er zeigte, daß diese von der Blinkrate abhängt, da durch jedes Blinken Tränenflüssigkeit, in der der Sauerstoff gelöst ist, unter die Contact-Linse gepumpt wird. Daß die Zunahme der Hydratation und Dicke der Hornhaut von der Anpassung abhängt, zeigten MANDELL, POLSE und FATT 197o. Eine zu fest angepaßte Linse kann den Tränenaustausch blockieren, so daß die Sauerstoffspannung unter der Contact-Linse unter die kritische Grenze von 20 mm Hg sinkt und die Hornhaut anschwillt.
Die Wirkung des Sauerstoffentzuges auf den Stoffwechsel der Cornea haben schon viele Wissenschaftler untersucht (LANGHAM 1954, SMELSER und CHEN 1955, MORLEY und McCHULLOCH 1961, REIM und MEYER 1967, BURNS, ROBERTS und RICH 1971).

LANGHAM 1954 hat die Lactatproduktion in Abhängigkeit zur Sauerstoffaufnahme in der Kaninchenhornhaut gemessen und gezeigt, daß Einschränkungen der Sauerstoffquelle Hornhauttrübungen, Schwellungen und Lactatanstieg zur Folge haben. Danach stieg die Lactatproduktion unter anaeroben Bedingungen im Epithel von 1840 auf 3800 µMol/g feucht/min. an, während sich der Lactatgehalt des Stromas kaum veränderte. Den gleichen Effekt erzielten SMELSER und OZANICS 1952 und 1953 und SMELSER und CHEN 1955, indem sie Meerschweinchen Contact-Linsen aufsetzten. Die Undurchsichtigkeit, der Wassergehalt und die Dicke der Hornhaut nahmen im selben Maße zu wie Lactat anstieg. Sie stellten eine Wasserzunahme zwischen den Kollagenfibrillen und eine rapide Abnahme der Glykogenspeicher im Epithel fest. BURNS, ROBERTS und RICH 1971 bestimmten quantitativ den Glucose-, Glykogen- und Lactatspiegel im Epithel bei Kaninchen unter Methylmethacrylat-Linsen. Bei schlecht angepaßten Contact-Linsen sank der Glykogengehalt nach 16 Stunden bis auf 19% ab, bei den genau angepaßten nur bis auf 36%. Auch war die Trübung der Hornhaut im zweiten Falle nicht so stark, Glucose war erniedrigt und Lactat jeweils erhöht. SMELSER und OZANICS 1953 und SMELSER und CHEN 1955 versuchten die Veränderungen unter Contact-Linsen dahingehend zu erklären, daß unter anaeroben Bedingungen möglicherweise die Glykolyse im Epithel angespornt und Glucose beschleunigt zu Lactat metabolisiert wird. Dieser Vorgang würde aber einen viel geringeren energetischen Gewinn bringen als der Abbau über den Hexosephosphat - shunt, so daß der aktive Wasserabtransport nicht aufrechterhalten werden kann. Die Glykogenabnahme im Epithel könnte die Folge der quantitativen Erhöhung der Glykolyse sein. Bei gleichbleibender Glucosezufuhr sind Erstickungserscheinungen die Folge.

4. künstliches Epithel

a. Klinik

"Künstliche Epithelien" haben beim Menschen in Fällen von

bullöser Keratopathie, neuroparalytischer Keratitis, Steven-Johnson-Syndrom, Keratitis sicca und anderen Erkrankungen des Epithels Verwendung gefunden. Zum Teil werden sie heute auch schon mit Erfolg bei Verätzungen angewandt, da sich auf diese Weise zumindestens zeitweilig eine Geschwürsbildung verhindern läßt. In Fällen, wo Contact-Linsen zu Hornhauterosionen, chronischen Entzündungen der Tränenwege und anderen Komplikationen führen, haben DOHLMAN 1969 u. a. sogar bei Aphakie aufgeklebte Contact-Linsen verwendet.

b. Physiologie und Biochemie

Bei Versuchstieren haben DOHLMAN, REFOJO, CARRELL und GASSET 1968, GASSET und KAUFMAN 1968, DOHLMAN, PAYRAU und POLIQUEN 1968, KAUFMAN und GASSET 1969 das Epithel abradiert und durch eine auf das Stroma mittels Isobutyl - cyanoacrylat - Klebstoff aufgeklebte Methylmethacrylat - Linse ersetzt. Die Wirkung eines "artificial epithelium" auf die Hornhautphysiologie und die Ionenkonzentration im Stroma untersuchten DOANE und DOHLMAN 1970 bei Menschen, Katzen und Kaninchen. Bei Kaninchen nahm die Hydratation und Dicke der Hornhaut vom Tage der Applikation an zu. Die Cl^- Ionenkonzentration war im Stroma nach 10 Tagen erniedrigt. Menschen und Katzen vertrugen die aufgeklebten Haftschalen gut. Die Hornhautdicke war bei den Patienten, die über 6 Monate solche aufgeklebten Linsen trugen, konstant, und die normale Hornhauttransparenz blieb erhalten. Sie schlossen daraus, daß das Epithel nur als Flüssigkeitsbarriere für die Hornhautphysiologie eine Rolle spielt, ansonsten aber ersetzt werden kann, ohne zu schwerwiegenden Komplikationen zu führen. Daß die Keratozyten wenigstens für eine gewisse Zeit auch ohne Endothel und Epithel lebensfähig sind, zeigten DOHLMAN, GASSET und ROSE 1968 mit Sulfat - ^{35}S markierten Ionen.

II. Fragestellung

1.) Die Ergebnisse der bisherigen Versuche mit Contact-Linsen an Kaninchen stehen in einem gewissen Widerspruch zu dem komplikationslosen Gebrauch von Contact-Linsen bei Millionen von Menschen.

2.) In der Literatur wird beschrieben, daß sich durch Tragen von Contact-Linsen ein Oedem der Hornhaut entwickelt und die Glykogenreserven im Epithel rasch abnehmen. Man glaubt, daß die Ursache dieser Komplikationen in einer Veränderung des Energiestoffwechsels liegt. Wir wollen deshalb untersuchen, inwieweit durch Tragen von Contact-Linsen der Metabolitgehalt in Epithel und Stroma beeinflußt wird.

3) Da neuerdings "künstliche Epithelien" in zunehmendem Maße auch in der Klink Verwendung finden, wollen wir die Auswirkungen dieser aufgeklebten Contact-Linsen auf die Hornhauternährung untersuchen.

4.) Durch den Vergleich der Ergebnisse unter Contact-Linsen und einem sogenannten "künstlichen Epithel" hoffen wir etwas über den Einfluß des Epithels auf die Metabolitkonzentration im Stroma und über die Bedeutung des Epithels für die Aufrechterhaltung der normalen Hydratation der Hornhaut aussagen zu können.

III. Methodik

Für unsere Versuche verwendeten wir Kaninchen verschiedenen Geschlechts und unterschiedlicher Rassen. Die Tiere waren gesund und wogen zwischen 2, 5 und 3, 5 kg. Sie befanden sich mindestens zwei Tage in einem temperierten Raum. Die Kaninchen wurden mit OVATOR - SOLIKANIN - Futter der Firma Muscator, Düsseldorf, ernährt.

1. Narkose

Zur Vermessung der Krümmungsradien, für die Operationen und Präparationen wurden die Kaninchen narkotisiert. Wir injizierten hierzu NEMBUTAL (Pentobarbital-Natrium 50 mg/ml der Firma Boehringer, Ingelheim) in die Ohrvene des Kaninchens. Die Dosierung für die Vollnarkose betrug ca. 35 mg/kg Körpergewicht. Zum Vermessen der Hornhäute reichte eine geringere Menge NEMBUTAL aus.

2. Contact-Linsen

a. Vermessung

Die Krümmungsradien der Kaninchenhornhäute wurden mit Hilfe eines Ophthalmometers nach JAVAL der Firma Zeiss, Jena, gemessen. Die Mehrheit der Radien bewegte sich zwischen 7, 5 - 8, 25 mm. Die meisten Kaninchen hatten einen Astigmatismus von ca. 1 Dioptrie.

b Anpassung

Für unsere Versuche verwendeten wir einen Satz von 23 Anpaßlinsen aus Methylmethacrylat-Kunststoff der Firma WÖHLK-CONTACT-LINSEN, Kiel,- wir danken der Fa. Wöhlk für die kostenlose Überlassung der Contact-Linsen - mit Krümmungsradien von 7, 5 - 8, 25 mm und einem Durchmesser von 11, 5 mm. Bevor wir den Kaninchen die Contact-Linsen mit Hilfe eines Saugers aufsetzten, wurden die Schalen ca. 5 Minuten gründlich mit CLENS (contact-lens cleaning solution, steril) der Firma Burton, Parsons & Co,

Washington, gereinigt. Die Anpassung erfolgte praktisch nach den in der Humanmedizin üblichen Regeln. Der Innenkrümmungsradius der Haftschale, die zunächst auf ihren Sitz kontrolliert wurde, lag im Durchschnitt zwischen minimalen und maximalen Krümmungsradien der Hornhaut. Der Sitz der Haftschale wurde mit Hilfe konzentrierter Fluorescin-Na (10%) Lösung unter Belichtung durch eine Hand-UV-Lampe beurteilt. Wo der Sitz nicht befriedigend war, wurde eine etwas steilere oder flachere Contact-Linse angepaßt.
Bevor die Hornhäute zur Extraktion gewonnen wurden, hatten die Kaninchen die Haftschalen entweder 12, 24 oder 48 Stunden ohne Gewöhnung oder 24 Stunden nach stufenweiser Eingewöhnung getragen. Bei der Eingewöhnung wurde wie folgt vorgegangen: am 1. Tag betrug die Tragzeit 2 Stunden, am 2. Tag 4 Stunden, am 3. Tag 6 Stunden, am 4. Tag 8 Stunden, am 5 Tag 10 Stunden, am 6. Tag 12 Stunden und am 7 Tag 24 Stunden. Danach wurden die Hornhäute zur Analyse präpariert.

3. künstliche Epithelien

Als "künstliche Epithelien" verwendeten wir die schon beschriebenen Contact-Linsen der Firma Wöhlk. Für diese Versuche wurden die Kaninchenhornhäute nicht vermessen, die Paßform der Contact-Linsen nur grob kontrolliert. Nachdem wir die Kaninchen in der üblichen Weise narkotisiert hatten, wurden zusätzlich 3 Tropfen NOVESINE^{R} 0, 4% ig der Firma Wander, Osthofen, ins Auge geträufelt. Danach abradierten wir das Epithel mit einem Hockey-Messer. Die gesäuberte und trockene Methylmethacrylat-Linse wurde in der äußersten Peripherie zirkulär mit einem schmalen Streifen HISTOACRYL^{R}-N-BLAU Gewebekleber der Firma Braun, Melsungen, versehen und auf die mit Saugkeilen abgetrocknete Stromaoberfläche in der allgemein üblichen Weise möglichst zentral aufgeklebt. Um vollständige Polymerisation des Histoacryl-N-bleu zu erreichen, wurde die Linsa ca. 15 Sekunden mit

dem Finger gegen die Hornhaut gedrückt und mit 2 Tropfen Novesine beträufelt.
Die Kaninchen trugen die aufgeklebten Contact-Linsen 48 Stunden, und zwar jeweils nur auf einem Auge, das andere Auge diente als Kontrolle.

4. Präparation des Epithels

a. Präparation des normalen Hornhautepithels

Nach Allgemein-Anaesthesie abradierten wir das Hornhautepithel warm mit Hilfe eines Hockey-Messers, ohne ein zusätzliches Lokalanaesthetikum zu benutzen. Das Gewebestück wurde sofort in einen mit 0, 5 ml eiskalter 0,5 n Perchlorsäure vorgewogenen Glas-in-Glashomogenisator nach POTTER ELVEJHEM eingewogen. Das Feuchtgewicht des Gewebestückes erhielten wir aus der Differenz der beiden Wägungen. Für die Gewichtsbestimmung verwendeten wir eine METTLER-Waage Typ H 16 der Firma Spoerhase AG, Gießen.

b. Präparation des Epithels unter Contact-Linsen

Nach Allgemein-Anaesthesie des Kaninchens wurde die Contact-Linse mit Hilfe eines Saugers vorsichtig entfernt. Danach träufelten wir etwas verdünnte Fluorescinlösung auf die Hornhaut, um festzustellen, ob Erosionen des Epithels vorhanden waren. Beim Abradieren des Epithels mit Hilfe eines Hockey-Messers wurde kein Lokalanaesthetikum verwendet. Das Gewebestück wurde dann sofort in einen mit 0, 5 ml eiskalter 0, 5 n $HClO_4$ auf der Mettler-Waage vorgewogenen Glashomogenisator eingewogen und aus der Differenz der Gewichte das Feuchtgewicht des abradierten Epithels ermittelt.

5. Präparation des Stromas

a Präparation des normalen Hornhautstromas

Nachdem das Epithel abradiert und eingewogen war, wurde das Stroma mit Hilfe eines in der Ophthalmologie üblichen

Trepans von 9 mm Durchmesser herausgeschnitten und mit Filterpapier abgetrocknet, um zu vermeiden, daß noch Kammerwasser am Stroma haftete. Danach wurde das Gewebestück sofort in einen mit 1 ml 0, 5 n gekühlter Perchlorsäure vorgewogenen Glashomogenisator auf der Mettler-Waage eingewogen. Aus der Differenz der Gewichte erhielten wir das Gewebsgewicht.

b. Präparation des Stromas unter Contact-Linsen

Bei der Präparation des Stromas eines Contact-Linsenauges gingen wir genauso vor wie bei der Präparation des normalen Hornhautstromas.

c. Präparation des Stromas unter künstlichem Epithel

Nachdem das Kaninchen narkotisiert war, entfernten wir die aufgeklebte Contact-Linse mit einem Hockey-Messer und schnitten das Stroma mit dem 9 mm Trepan heraus. Das mit Filterpapier abgetrocknete Stroma wurde in einen vorgewogenen und vorgekühlten Glas-in-Glashomogenisator mit 1, 0 ml 0, 5 n $HClO_4$ eingewogen. Aus der Gewichtsdifferenz erhielten wir das Gewebsgewicht.

6. Extraktion der Gewebestücke

Die Weiterverarbeitung der Gewebestücke war bei Epithel und Stroma gleich und erfolgte immer noch am gleichen Tag. Die Gewebe wurden zunächst 10 Minuten in den Glas-in-Glashomogenisatoren mit Hilfe eines Mahl-Rühr-Motors im Eisbad homogenisiert. Es waren dann keine Gewebestücke mehr sichtbar. Die Lösung wurde in der JUNIOR III Zentrifuge der Firma Christ, Osterode/Harz, 10 Minuten lang bei 3000 x g zentrifugiert. Den klaren Überstand füllten wir in ein Reagenzglas, der im Eisbad mit 10 n KOH bis zum pH 7, 0 neutralisiert wurde. Der pH 0, 5 - 5, 0 wurde mit ACILIT Indikatorpapier der Firma Merck, Darmstadt, der pH 6, 4 - 8, 0 mit Spezialindikatorpapier der Firma

Merck auf einer Tüpfelplatte bestimmt. Das ausfallende $KClO_4$-Salz wurde nach der Neutralisation bei 3000 x g in der Junior III Zentrifuge 10 Minuten abzentrifugiert. Der Überstand wurde in ein Extraktgläschen umgegossen und in einem Eiskasten bis zum Ende der Messungen aufbewahrt. Alle Messungen erfolgten noch am selben Tag.

7. Bestimmung der Metabolitkonzentrationen mittels enzymatisch-optischer Tests nach HOHORST, KREUTZ und BÜCHER, 1959

Im Epithel und Stroma bestimmten wir Lactat, Glucose und Pyruvat. Die Analysen erfolgten mit dem EPPENDORF-Photometer (Firma Netheler & Hinz, Hamburg) in Verbindung mit dem Philips-Schreiber Typ 2210 A oder dem Spektralphotometer nach BECKMANN DK-2A. Als Küvetten verwandten wir Normalglas-Küvetten mit der Schichtdicke d = 1 und Halbmicroküvetten mit der Schichtdicke d = 2. Durch einen Thermostaten der Firma Haake, Karlsruhe, wurden die Küvettenhalter in den Photometern auf einer konstanten Temperatur von 25° C gehalten.
Für unsere Tests verwandten wir ionenfreies Wasser mit einem Leitwiderstand von mehr als 2 Meg-Ohm. Die Aufbereitung des destillierten Wassers erfolgte in einer Anlage der Firma Lang, Zürich.
Für die Abmessung des Puffers und Wassers verwendeten wir Stangenpipetten, für Enzyme Extrakt und andere Testreagenzien Micropipetten der Firma Eppendorf "Modell Marburg".

a. Reaktionen

Der kombinierte enzymatische Test beruht auf folgenden Reaktionen:

1) Lactat + NAD + Hydrazin $\xrightarrow{\text{LDH}}$ Pyruvathydrazon + NADH + H_3O^+

2) Glucose + ATP $\xrightarrow[Mg^{++}]{\text{Hexokinase}}$ G-6-P + ADP

G-6-P + NADP $\xrightarrow[\text{G-6-PDH}]{\text{G-6-PDH}}$ 6-PG + NADPH

b. Testansätze zur enzymatischen Metabolitbestimmung

Bestimmung von D-Glucose

Schreibskala: 0 - 0.500 Filter: 334 µm
Halbmicroküvette d = 2

0, 5	ml	TRAP	100 mM / EDTA 1 mM; pH = 7, 6	
0, 01	ml	$MgCl_2$	100 mM	
0, 01	ml	ATP	75 mM	c = 45, 5
0, 02	ml	NADP	25 mM	c = 20
0, 01	ml	G-6-PDH	1:10	c = 5
0, 44	ml	Extrakt + H_2O		

Start: 0, 01 ml HK 1:10 c = 10

Die D-Glucosekonzentration wurde im Doppeltest in 0, 1 ml und 0, 05 ml Extrakt bestimmt.

Bestimmung von L (+) - Lactat

Schreibskala: 0 - 1, 0 Filter: 340 µm oder 344 µm
Normalküvette d = 1

0, 45	ml	Hydrazinpuffer nach HOHORST (Zusammensetzung s. u.)	
0, 05	ml	NAD	60 mM c = 40
0, 5	ml	Extrakt + H_2O	

Start: 0, 02 ml LDH 1:1

Die Bestimmung der Lactatkonzentration erfolgte im Doppeltest mit 0, 1 ml und 0, 05 ml Extrakt. Zusätzlich wurde jedesmal der Leerwert des Wassers in 0, 5 ml H_2O ohne Extraktzugabe gemessen und ΔE, wenn Lactat im Wasser enthalten war, vom Lactatgehalt des Extraktes abgezogen. Für Leerwertbestimmungen der Perchlorsäure wurde die reine 0, 5 n $HClO_4$ mit 10 n KOH neutralisiert und wie ein Extrakt weiterbehandelt. Bei Verunreinigungen der Perchlorsäure mit Lactat haben wir das ΔE vom Lactatgehalt des Extraktes abgezogen.

Hydrazinpuffer nach HOHORST

0, 4 m Hydrazinsulfat
1, 0 m Glykokoll
0, 005 m EDTA
mit 51 ml 2n NaOH auf pH 9, 5 eingestellt
Dieser alkalische Puffer ist nicht stabil und wird deshalb in kleinen Gläschen tiefgefroren aufbewahrt.

LDH-Aufbereitung für den Lactat-Test

Die für einen Tag benötigte Menge an Lactat-Dehydrogenase der Firma Boehringer, Mannheim, wurde 10 Minuten in der Kühlzentrifuge OMIKRON der Firma Christ bei ca. 0° C und 15000 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und der Rückstand in der gleichen Menge aqua dest. gelöst.

Bestimmung von Brenztraubensäure (BTS, Pyruvat)

Schreibskala: 0 - 0, 500 Filter: 334 µm
Halbmicroküvette d = 2

0, 5 ml TRAP 100 mM / EDTA 1 mM pH 7, 6
0, 01ml NADH 11 mM c = 8
0, 5 ml Extrakt + H_2O

Start: 0, 01 ml LDH 1:20

BTS wurde im Epithel nicht bestimmt, weil die Extraktmenge nicht ausreichte.
Alle für die Tests benötigten Reagenzien stammten von der Firma Boehringer und Söhne, Mannheim, und von der Firma Merck, Darmstadt.

c. Berechnung der Metabolitkonzentrationen

Die Konzentrationen der Metabolite des Hornhautepithels und Stromas werden in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht angegeben.

Die Berechnung erfolgte nach der Gleichung:

$$\frac{E \times \text{Testvolumen} \times \text{Extraktvolumen}}{\varepsilon \times d \times \text{Einsatzvolumen} \times \text{Gewebsgewicht}} = \text{Mol/g Frischgewicht}$$

E = Extinktionsdifferenz
ε = Extinktionscoeffizient
bei 334 µm = $6,09 \times 10^6$
bei 340 µm = $6,28 \times 10^6$
d = Schichtdicke der Küvette

8. Hydratation

Der Wassergehalt und die Hydratation des normalen Hornhautstromas, des Stromas unter Contact-Linsen und des Stromas unter einem künstlichen Epithel wurde mit Hilfe des Frierstoppverfahrens bestimmt.
Die Präparation des Stromas unter den verschiedenen Bedingungen erfolgte wie oben angegeben mit einem 7 mm Trepan. Das Stroma wurde sofort nach der Excision in flüssigem Stickstoff eingefroren. Im gefrorenen Zustand wurde das Stroma auf einer CAHN-Waage gewogen. Es taute dabei nicht auf, da die Wägung weniger als 10 Sekunden dauerte. Die Waage und die aus Aluminium-Folie geformten Wägeschälchen waren äquilibriert.
Danach wurde das Gewebe in einer WKf-GEFRIERTROCKNUNGS-ANLAGE der Gesellschaft für Elektrophysikalischen Apparatebau, Brandau/Darmstadt, bei Zimmertemperatur gefriergetrocknet. Die Gewebestücke blieben etwa 24 Stunden in der Anlage. Es zeigte sich, daß danach keine weitere Austrocknung des Gewebes erfolgte. Nach dem Lyophilisieren wurde mit der gleichen Waage das Trockengewicht bestimmt.
Die Berechnung des Wassergehaltes und der Hydratation des Stromas erfolgte nach folgender Gleichung:

$$\text{Wassergehalt in \%} = \frac{\text{Feuchtgewicht} - \text{Trockengewicht}}{\text{Feuchtgewicht}} \times 100$$

$$\text{Hydratation} \frac{(H_2O)}{(\text{trocken})} = \frac{\text{Feuchtgewicht} - \text{Trockengewicht}}{\text{Trockengewicht}}$$

Die Berechnung der Metabolitkonzentrationen im Stroma bezogen auf den Wassergehalt des Stromas unter den verschiedenen experimentellen Bedingungen erfolgte nach folgender Gleichung:

$$\frac{\text{Mol/g Frischgewicht}}{\text{Wassergehalt in \%}} \times 100 = \text{Mol/g } H_2O$$

9. Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen wurden nach folgenden Formeln statistisch ausgewertet:

Mittelwert $M = \frac{\sum x}{n}$ $\quad n$ = Zahl der Versuche, x = Einzelwert

Varianz $s^2 = \frac{\sum x^2 - (M \times \sum x)}{n - 1}$

Streuung $s = \sqrt{\frac{x^2 - (M \times \sum x)}{n - 1}}$ $\quad$ Streuung des Mittelwertes $s_M = s \frac{1}{\sqrt{n}}$

Die Ergebnisse werden als Mittelwerte angegeben.
Durch die zentrale Rechenanlage der Universität Marburg - wir danken Herrn Zöfel für die freundliche Unterstützung - hatten wir die Möglichkeit, unsere Ergebnisse mit Hilfe eines Computers auswerten zu lassen.
Der Vergleich der Mittelwerte wurde für abhängige Stichproben mit Hilfe des t-Testes nach STUDENT und für unabhängige Stichproben mit dem t-Test für korrelierende Stichproben durchgeführt.

IV. Ergebnisse

1. Klinische Beobachtungen

Nachdem die Kaninchen die Contact-Linsen 12, 24 und 48 Stunden (zwei) ohne und 24 Stunden mit Gewöhnung getragen hatten, waren die Haftschalen meist mit einem weißen Sekret verschmiert. Bei vielen Kaninchen waren die Konjunktiven gereizt. Es zeigte sich, daß alle Tiere, die nicht an die Contact-Linsen gewöhnt worden waren, eine zentrale Erosion hatten. Kleinere Erosionen des Epithels stellten wir bei einer geringen Prozentzahl der gewöhnten Kaninchen fest. Die Größe der Erosionen wurde mit Hilfe von verdünnter Fluorescinlösung beurteilt, wobei sich die Stelle der Erosion grün anfärbte. Das Stroma wirkte in allen Fällen leicht trüb. Die klinischen Beobachtungen bei jedem einzelnen Kaninchen werden bei den Einzelwerten im methodischen Anhang aufgeführt.
Im Vergleich zu den angepaßten Contact-Linsen waren die Bindehäute bei den künstlichen Epithelien mehr gerötet. Die Hornhaut zeigte eine vermehrte Trübung, an den Contact-Linsen haftete aber weniger Sekret.

2. Die Metabolite des Hornhautepithels unter den verschiedenen experimentellen Bedingungen

Der Metabolitgehalt des Hornhautepithels in vivo ist in Tabelle 1 mit Vergleichswerten (ebenfalls von Kaninchen) aus der Literatur dargestellt. Die von uns gefundenen Werte liegen zwischen den in der Literatur angegebenen Metabolitkonzentrationen. Unter den Ergebnissen ist die Anzahl der getesteten Epithelien n aufgeführt. Unter Contact-Linsen ist der Metabolitgehalt im Hornhautepithel bei Kaninchen signifikant verändert, d. h. Lactat ist erhöht und Glucose erniedrigt.

Metabolit	M ± S	Vergleichswerte der Literatur
Glucose	2, 70 ± 0, 35 n = 10	2, 26[2] 4, 40[3] 4, 00[4]
Lactat	18, 83 ± 1, 03 n = 11	11, 00[1] 27, 19[2] 20, 78[4]

1 MORLEY und TOTH 1961
2 REIM, SCHMIDT und MEYER 1965
3 REIM, LAX, LICHTE und TURSS 1967
4 TURSS, FRIEND und DOHLMAN 1969

Tabelle 1: Metabolitspiegel im normalen Hornhautepithel des Kaninchens mit Standardabweichung des Mittelwertes ($M \pm S_M$) in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht. n = Anzahl der Versuche.

In Tabelle 2 ist weiter der Metabolitgehalt des Hornhautepithels aufgeführt, nachdem die Kaninchen die Contact-Linsen 12 bzw. 24 Stunden ohne Gewöhnung und 24 Stunden nach stufenweiser Eingewöhnung getragen hatten. In allen Fällen ist Glucose im Epithel nicht signifikant erniedrigt, Lactat aber signifikant erhöht. Ein Vergleich der Metabolitkonzentrationen unter den verschiedenen experimentellen Bedingungen ergab sowohl für Glucose als auch für Lactat keine signifikanten Unterschiede. Es handelt sich hier immer um unabhängige Stichproben.

Mb.	alle Contact-Linsen	12 std. o. G.	24 std. o. G.	24 std. m. G.
G.	2,09±0,37	2,31±0,66	1,03±0,00	1,79±0,50
	n = 8	n = 4	n = 1	n = 2
	p = 0, 036	nicht sign. versch. v. normal	n. sign. versch. v. norm.	n. sign. versch. v. normal
L.	26,03±1,15	25,44±1,57	25,32±3,34	27,48±2,45
	n = 18	n = 8	n = 4	n = 5
	p = 0, 002	p = 0,003	p = 0,035	p = 0, 003

Tabelle 2: Metabolitspiegel im normalen Hornhautepithel verglichen mit Metabolitspiegeln im Epithel unter Contact-Linsen nach 12 und 24 Stunden ohne Gewöhnung und nach 24 Stunden mit Gewöhnung. Mittelwerte und Standardabweichungen des Mittelwertes in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht. n = Anzahl der Messungen. p = Signifikanzgrad. p = 0,05 entspricht der Signifikanzgrenze von 5%.

3. Die Metabolite des Hornhautstromas unter den verschiedenen experimentellen Bedingungen

Der Metabolitgehalt des Hornhautstromas in vivo ist in Tabelle 3 mit Vergleichswerten (ebenfalls von Kaninchen) aus der Literatur dargestellt. Die von uns gefundene Glucosekonzentration im Stroma liegt an der oberen Grenze der in der Literatur angegebenen Werte, die Lactat- und Pyruvatkonzentrationen liegen ungefähr in der Mitte. Zusätzlich haben wir jeweils den L/P-Quotienten bestimmt, da dessen Höhe als Kriterium für den Redoxstatus des Gewebes gilt.

Metabolit	$M \pm S_M$	Vergleichswerte der Literatur
Glucose	3, 83 ± 0, 17	3, 06[2]
		3, 06[3]
		3, 63[4]
	n = 26	3, 31[5]
Lactat	7, 81 ± 0, 25	8, 56[1]
		7, 06[3]
	n = 26	9, 66[4]
Pyruvat	0, 27 ± 0, 02	0, 24[3]
	n = 26	0, 36[4]
L/P	32, 9 ± 2, 83	29, 0[3]
	n = 26	

1 MORLEY und TOTH 1961
2 REIM, LAX, LICHTE u. TURSS 1967
3 Diss. SCHMIDT 1967
4 REIM, CATTEPOEL, BITTMANN und KILP 1969
5 TURSS, FRIEND, REIM und DOHLMAN 1971

Tabelle 3: Metabolitspiegel im normalen Hornhautstroma des Kaninchens mit Standardabweichungen des Mittelwertes ($M \pm S_M$) in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht.

Die Gegenüberstellung der Metabolitwerte des normalen Hornhautstromas und des Stromas unter Contact-Linsen zeigte, daß Glucose im Stroma unter Contact-Linsen signifikant erniedrigt ist. Die Lactatkonzentration ist unter Haftschalen signifikant erhöht. Der Vergleich der Pyruvatwerte ergab keinen signifikanten Unterschied.
Der L/P- Quotient ist unter Contact-Linsen zwar etwas höher, aber nicht signifikant verschieden vom L/P-Quotienten des normalen Stromas.

In Tabelle 4 ist auch der Metabolitgehalt des Hornhautstromas aufgeführt, nachdem die Kaninchen die Contact-Linsen 12 bzw. 24 Stunden ohne Gewöhnung und 24 Stunden nach stufenweiser Eingewöhnung getragen hatten. Nach 12 Stunden ohne Gewöhnung liegt der Signifikanzgrad für die Glucosekonzentration im Stroma noch knapp über der Signifikanzgrenze ($p = 0,053$). In den beiden anderen Fällen ist Glucose unter Contact-Linsen signifikant erniedrigt. Die Lactatkonzentration ist im Stroma unter Haftschalen nach 12 und 24 Stunden ohne Gewöhnung und nach 24 Stunden mit Gewöhnung immer signifikant erhöht. Für die Pyruvatkonzentrationen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Das gleiche gilt für den L/P-Quotienten. Vergleiche der Metabolitkonzentrationen unter den verschiedenen experimentellen Bedingungen ergaben sowohl für Glucose als auch für Lactat, Pyruvat und L/P-Quotienten im Stroma keine signifikanten Unterschiede.

Mb.	alle Contact-Linsen $M \pm S_M$	12 std. o. G. $M \pm S_M$	24 std. o. G. $M \pm S_M$	24 std. m. G $M \pm S_M$
G.	2,99±0,15	3,20±0,27	2,99±0,28	2,74±0,25
	n = 26	n = 10	n = 5	n = 9
	p 0,001	p 0,053	p 0,045	p 0,03
L.	11,17 ±0,69	10,96 ±0,73	9,82 ±0,41	12,30±1,82
	n = 26	n = 10	n = 5	n = 9
	p 0,001	p 0,001	p 0,002	p 0,001
P.	0,30±0,03	0,24±o,o4	0,30±0,06	0,38±0,07
	n = 26	n = 7	n = 4	n = 8
	nicht sign. verschieden von normal	nicht sign. versch. von normal	nicht sign. versch. von normal	nicht sign. versch. von normal
L/P	43,7±6,34	57,1±16,7	36,8±7,68	33,9±5,63
	n = 26	n = 7	n = 4	n = 8
	nicht sign. versch. von normal	nicht sign. versch. von normal	nicht sign. versch. von normal	nicht sign. versch. von normal

Tabelle 4: Metabolitspiegel im normalen Hornhautstroma verglichen mit Metabolitspiegeln im Stroma unter Contact-Linsen nach 12 und 24 Stunden ohne Gewöhnung und nach 24 Stunden mit Gewöhnung.
Mittelwerte und Standardabweichungen der Mittelwerte ($M \pm S_M$) in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht. n = Anzahl der Messungen.
p = Signifikanzgrad bei Vergleich mit normalem Stroma für unabhängige Stichproben. Signifikanzgrenze von 5% entspricht p = 0, 05.

4. Die Metabolite des Hornhautstromas unter einem künstlichen Epithel

In Tabelle 5 ist der Metabolitgehalt des normalen Hornhautstromas der 11 Kontrollaugen, des Stromas unter einem künstlichen Epithel nach 48 Stunden und p = der Signifikanzgrad für abhängige Stichproben dargestellt. Im Stroma unter einem künstlichen Epithel ist Lactat gegenüber dem normalen Hornhautstroma signifikant erniedrigt. Sowohl beim Vergleich der Glucosewerte als auch beim Vergleich der Pyruvatwerte ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Metabolit	normales Stroma $M \pm S_M$	künstliches Epithel $M \pm S_M$
Glucose	3, 58 ± 0, 23 n = 11	3, 64 ± 0, 22 n = 11 n. sign. versch. von normal
Lactat	8, 02 ± 0, 20 n = 11	7, 02 ± 0, 21 n = 11 p = 0, 013
Pyruvat	0, 26 ± 0, 04 n = 11	0, 24 ± 0, 02 n = 11 n. sign. versch. von normal
L/P	36, 3 ± 4, 49 n = 11	32, 3 ± 4, 04 n = 11 n sign. versch. von normal

Tabelle 5: Metabolitspiegel im Stroma unter einem künstlichen Epithel und im normalen Hornhautstroma bei Kaninchen. Mittelwerte und Standardabweichungen des Mittelwertes in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht. n = Anzahl der Messungen. p = Signifikanzgrad bei Vergleich mit normalem Stroma für abhängige Stichproben. p = 0, 05 entspricht Signifikanzgrenze von 5%.

V. Diskussion

1. Betrachtung der Ergebnisse im Epithel unter Contact-Linsen

In unseren Untersuchungen - wie auch in der Literatur - schwankten die Metabolitwerte des Epithels, darunter besonders der Lactatgehalt, stark. Da diese Streuung nur zum Teil auf Ungenauigkeiten bei der Extraktion und Testung zurückzuführen ist und wahrscheinlich der Metabolitgehalt von Tier zu Tier stark schwankt, diente uns in den meisten Fällen ein Auge des Kaninchens als Kontrolle. Dadurch konnten wir einmal quantitative Veränderungen der Metabolitkonzentrationen im Epithel und Stroma unter Contact-Linsen bzw. unter einem künstlichen Epithel besser beurteilen, zum anderen aber auch durch die konstanteren Bedingungen zusätzliche Fehlerquellen eliminieren. Daß die Streuung der Einzelwerte im Epithel trotzdem so hoch ist, mag zum Teil an einer gewissen Ungenauigkeit beim Wiegen liegen, da das Epithel warm abradiert und so unter Umständen Tränenflüssigkeit mit eingewogen wurde, die dann während des Wiegens teilweise verdunstete. Zum anderen stellten wir bei 80% aller Kaninchenaugen, die Contact-Linsen getragen hatten, unterschiedlich große Erosionen im Epithel fest. Das damit verbundene Epitheloedem könnte eine Ursache für die noch etwas breitere Streuung der Metabolitwerte unter Contact-Linsen sein. Wegen dieser methodischen Schwierigkeiten mag die Genauigkeit der Absolutwerte für das Epithel begrenzt sein. Die Relationen der einzelnen Metabolite zueinander unter den verschiedenen Versuchsbedingungen sind natürlich weit zuverlässiger.

Metabolit	normales Epithel $M \pm S_M$	Contact-Linsen $M \pm S_M$
Glucose	2, 70 ± 0, 39 n = 10	2, 09 ± 0, 37 n = 8 p = 0, 036
Lactat	18, 83 ± 1, 03 n = 11	26, 03 ± 1, 15 n = 18 p = 0, 002

Tabelle 6: Metabolitspiegel im Hornhautepithel des Kaninchens unter Contact-Linsen und im normalen Epithel. Mittelwerte und Standardabweichungen vom Mittelwert ($M \pm S_M$) in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht. n = Anzahl der Messungen. p = Signifikanzgrad. p = 0,05 entspricht der Signifikanzgrenze von 5%. Es handelt sich um abhängige Stichproben.

Die von uns gefundenen Metabolitkonzentrationen von Lactat und Glucose im normalen Epithel sind fast Mittelwerte der in der Literatur angegebenen Werte.
Bei Kaninchen, die Contact-Linsen 12 bzw. 24 Stunden ohne Gewöhnung und 24 Stunden nach stufenweiser Eingewöhnung getragen hatten, stellten wir im Epithel eine Erhöhung des Lactatgehaltes auf 138% fest. Nach BURNS, ROBERTS und RICH 1971, deren Ergebnisse erst veröffentlicht wurden, als wir bereits mit der Arbeit begonnen hatten, steigt die Lactatkonzentration im Epithel von Kaninchen, die 16 Stunden lang sorgfältig angepaßte Methylmethacrylat-Linsen getragen hatten, auf 181% des normalen Lactatgehaltes an. MORLEY und McCHULLOCH 1961 fanden nach 24 Stunden im Epithel eine Lactaterhöhung auf 156%. Bei SMELSER und CHEN 1955 steigt die Lactatkonzentration in der gesamten Hornhaut unter Contact-Linsen sogar schon nach 6 Stunden auf 300%an.
Unter den gleichen experimentellen Bedingungen ermittelten

wir im Epithel ein Absinken der Glucosekonzentration auf 74, 5% des normalen Glucosegehaltes, während nach BURNS, ROBERTS und RICH 1971 die Glucosewerte im Epithel unter Contact-Linsen bei ebenfalls vorsichtiger Anpassung nach 16 Stunden auf 33% abfallen.
Da bei uns sowohl der Anstieg des Lactatgehaltes als auch der Abfall der Glucosekonzentration im Epithel unter Contact-Linsen geringer ist als bei allen anderen Autoren, liegt die Vermutung nahe, daß wir die Haftschalen besser angepaßt haben.
Für ihre Versuche benutzten MORLEY und McCHULLOCH 1961 Contact-Linsen mit einem Durchmesser von 11, 4 - 11, 9 mm. Dies entspricht ungefähr der Größe der von uns verwendeten Haftschalen. Doch liegen leider keine Angaben über Erosionen und bei den anderen Autoren auch nicht über die Größe der Contact-Linsen vor, so daß dadurch der Vergleich der Ergebnisse erschwert wird.
Zusammenfassend können wir aber trotzdem sagen, daß wir im Grunde zu dem gleichen Ergebnis gekommen sind wie SHELSER und CHEN 1955, MORLEY und McCHULLOCH 1961 und BURNS, ROBERTS und RICH 1971. Unter Contact-Linsen kommt es im Hornhautepithel von Kaninchen zu einem Absinken der Glucosekonzentrationen und zu einer Zunahme des Lactatgehaltes Der Grad dieser Veränderungen ist wahrscheinlich abhängig von der Genauigkeit der Anpassung. Sicher sind auch Form und Größe der Contact-Linsen von Bedeutung, da man aus der Humanmedizin weiß, wie unterschiedlich gut die angepaßten Contact-Linsen vertragen werden.
Die von uns gefundenen erhöhten Lactatwerte im Epithel unter Contact-Linsen nach 12 bzw. 24 Stunden ohne Gewöhnung und 24 Stunden mit Gewöhnung liegen sehr dicht zusammen. Wir fanden keinen Zusammenhang zwischen der unterschiedlichen Tragdauer oder der stufenweisen Eingewöhnung von Contact-Linsen und dem Lactat- oder Glucosegehalt des Hornhautepithels bei Kaninchen.
Doch ist auf Grund der Beobachtung, daß Kaninchen, die an die Contact-Linsen gewöhnt waren, viel seltener Erosionen hatten, der Schluß erlaubt, daß Contact-Linsen umso

besser vertragen werden, je langsamer die Augen an die Haftschalen gewöhnt werden und je kürzer die Eingewöhnungszeit ist, was ja mit den Erfahrungen in der Humanmedizin in Einklang steht.

2. Betrachtung der Ergebnisse im Stroma

Metabolit	normales Stroma $M \pm S_M$	Contact-Linsen $M \pm S_M$
Glucose	3, 83 ± 0, 17 n = 26	2, 99 ± 0, 15 n = 26 p = 0, 001
Lactat	7, 81 ± 0, 25 n = 26	11, 17 ± 0, 69 n = 26 p = 0, 001
Pyruvat	0, 27 ± 0, 02 n = 26	0, 30 ± 0, 03 n = 21 n. signif.
L/P	32, 9 ± 2, 83 n = 26	43, 7 ± 6, 34 n = 21 n. signif.

Tabelle 7: Metabolitspiegel im Hornhautstroma des Kaninchens unter Contact-Linsen und im normalen Stroma. Mittelwerte und Standardabweichungen der Mittelwerte ($M \pm S_M$) in 10^{-6} Mol/g Frischgewicht. n = Anzahl der Messungen. p = Signifikanzgrad. p = 0, 05 entspricht der Signifikanzgrenze von 5%. Es handelt sich um unabhängige Stichproben.

Im Stroma unter Contact-Linsen fanden wir insgesamt eine Zunahme des Lactatgehaltes auf 143% der normalen Lactatkonzentration/g Frischgewicht bzw. auf 139% bezogen auf die Lactatkonzentration in der extrazellulären Stromaflüssigkeit. Die von uns gefundenen Werte stimmen mit den Ergebnissen von MORLEY und McCHULLOCH 1961 überein, die

eine Erhöhung des Lactatgehaltes im Stroma auf 146% der normalen Lactatkonzentration beschreiben, nachdem Kaninchen 24 Stunden Contact-Linsen getragen hatten.
Inwieweit durch Tragen von Contact-Linsen die Glucosekonzentration im Stroma verändert wird, wurde bisher noch nicht untersucht. Analog zu den Veränderungen im Epithel haben wir im Stroma unter Contact-Linsen insgesamt eine Glucoseverminderung auf 78% bzw. auf 75% bezogen auf die Glucosekonzentration in der extrazellulären Stromaflüssigkeit festgestellt.
SMELSER und OZANICS 1953, SMELSER und CHEN 1955 glauben, daß sowohl die rasche Abnahme der Glykogenreserve als auch der hohe Lactatanstieg unter Contact-Linsen Folgen eines relativen Sauerstoffmangels der Hornhaut sind, der einen gesteigerten Abbau der energiereichen Metabolite Glykogen und Glucose über die anaerobe Glykolyse verursacht. Auf Grund unserer Ergebnisse ist es jedoch unwahrscheinlich, daß die anaerobe Glykolyse in der Hornhaut unter Contact-Linsen zunimmt, da die Konzentrationen von Glucose und Lactat nur relativ gering erniedrigt bzw. erhöht sind. Das gilt auch für die auf keinen Fall abfallende, sondern eher konstant bleibende Pyruvatkonzentration im Stroma. Besonders aber der fast gleichbleibende L/P-Quotient, der Rückschlüsse auf den Redox-Status des energieliefernden Stoffwechsels zuläßt (HOHORST, KREUTZ und REIM 1961) spricht nicht dafür, daß eine anaerobe Glykolyse vermehrt stattfindet. Denn dann müßte man, wie aus den Untersuchungen unter eindeutigen Stoffwechselbedingungen (Anaerobiose) von Leber (HOHORST, KREUTZ und BÜCHER 1959), Muskel (HOHORST, REIM und BARTELS 1961), Tränendrüse (REIM 1964), Cornea (REIM und LICHTE 1965) bekannt ist, einen stärkeren Anstieg des L/P-Quotienten erhalten. Daher ist im Zusammenhang mit dem verminderten Glucosegehalt eher an einen erhöhten Substratfluß über den Emden-Meyerhof-shunt zu denken. Dabei kann es zu dem Lactatanstau kommen, den wir hier gemessen haben.
In unseren Versuchen stellten wir eine Zunahme des Wassergehaltes im Stroma unter Contact-Linsen nach 24 Stunden um ca. 3,5% fest. Dieser geringe Unterschied ist aber wegen der Genauigkeit der Methodik schon hoch signifikant.

Nach SMELSER und CHEN 1955 erhöht sich der Wassergehalt in der Kaninchenhornhaut unter Contact-Linsen nach der gleichen Zeit um 20%.

Metabolit	normal	Contact-Linsen	künstl. Epithel
Glucose	4, 88 ± 0, 23	3, 67 ± 0, 18	4, 37 ± 0, 26
	n = 26	n = 26	n = 11
		p 0, 0001	nicht signif.
Lactat	9, 93 ± 0, 31	13, 73 ± 0, 86	8, 44 ± 0, 27
	n = 26	n = 26	n = 11
		p 0, 0003	p 0, 0072
Pyruvat	0, 34 ± 0, 03	0, 32 ± 0, 04	0, 29 ± 0, 03
	n = 26	n = 21	n = 11
		n. signif.	n. signif.
Hydratation $\frac{(H_2O)}{(dry)}$	3, 64 ± 0, 06	4, 37 ± 0, 09	4, 98 ± 0, 11
	n = 8	n = 8	n = 8
		p 0, 0001	p 0, 0001
Wassergehalt %	78, 69 ± 0, 17	81, 37 ± 0, 32	83, 16 ± 0, 31
	n = 8	n = 8	n = 8
		p 0, 0001	p 0, 0001

Tabelle 8: Metabolitspiegel im normalen Hornhautstroma, im Stroma unter Contact-Linsen und einem künstlichen Epithel. Mittelwerte und Standardabweichungen vom Mittelwert in 10^{-6} Mol/g H_2O. p = Höhe der Signifikanz gegenüber dem normalen Hornhautstroma. p = 0, 05 entspricht der Signifikanzgrenze von 5%.

3. Betrachtung der Ergebnisse unter einem künstlichen Epithel

Wie aus Tabelle 8 zu ersehen ist, steigt der Wassergehalt unter einem künstlichen Epithel nach 24 Stunden um 5, 7% an. Dies ist etwas mehr als bei DOANE und DOHLMAN 1971, die bei Kaninchen nach 26 Tagen nur eine Zunahme des Wassergehaltes um 3% fanden.
Wir hatten sowohl bei den Hornhäuten unter Contact-Linsen als auch bei denen unter einem künstlichen Epithel den Eindruck, daß kurz nach Entfernen der Contact-Linsen die Trübung zunahm. Hierfür haben wir keine Erklärung. Die Tatsache, daß Glucose unter einem künstlichen Epithel im Stroma nicht verändert ist, widerlegt die Theorie, daß die Hornhaut von den Tränen her mit Glucose versorgt wird. Aus der Tatsache, daß gleichzeitig Lactat im Stroma absinkt, können wir schließen, daß im Epithel der normalen Hornhaut mehr Lactat produziert als weiter metabolisiert und ins Stroma abgegeben wird. Diese Ergebnisse zeigen auch, daß die Ernährungsbedingungen für Keratozyten unter einem künstlichen Epithel nicht verschlechtert sind. Daß im Stroma keine excessive Lactatproduktion stattfindet, könnte darauf hinweisen, daß das Stroma möglicherweise genügend Sauerstoff aus dem Kammerwasser erhält. Diese Tatsache unterstützt die Theorie von FATT und BIEBER 1968, daß das Epithel den Hauptbedarf an Sauerstoff hat.

4. Die Bedeutung der Versuchsergebnisse für den Menschen

Die von uns gefundenen Ergebnisse bei Kaninchen mit Contact-Linsen und einem künstlichen Epithel kann man nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen. Unterschiede in der Anatomie der Hornhäute wie z. B. das dünnere und nicht so widerstandsfähige Epithel können die bei Kaninchen sehr viel häufiger auftretenden Erosionen erklären. Auch künstliche Epithelien werden vom Menschen und von Katzen weitaus besser vertragen als von Kaninchen. Kaninchen sind für Versuche mit Contact-Linsen nur bedingt gute

Versuchstiere, da sie nur sehr selten blinken. Nach FATT 1968 ist aber die Sauerstoffspannung unter der Contact-Linse abhängig von der Blinkfrequenz. Andererseits ist der Lactatanstieg, wie wir zeigten, nicht beweisend für eine Erstickung der Epithelzellen.
Das sogenannte "künstliche Epithel" scheint vom biochemischen Standpunkt her relativ unbedenklich für die Hornhaut zu sein. Das Epithel als größter Verbraucher von Sauerstoff und Nährstoffen entfällt, und die Keratozyten haben ein normales Glucoseangebot bei soger gesenktem Lactatspiegel. Sie scheinen nicht anoxämisch zu sein, sonst wäre ein erhöhter Lactatspiegel zu erwarten. Das steht im Einklang mit den klinischen Erfahrungen.

VI. Zusammenfassung

1. Unter sorgfältig angepaßten Contact-Linsen ist bei Kaninchen sowohl im Epithel als auch im Hornhautstroma nach einem Tag der Lactatgehalt signifikant erhöht und Glucose signifikant erniedrigt. Gleichzeitig nimmt im Stroma der Wassergehalt um 3% zu. Die Pyruvatkonzentration und der Lactat/Pyruvat Quotient sind im Stroma nicht signifikant verändert.

2. Diese Veränderungen sind unabhängig von der Tragdauer der Contact-Linsen, sie sind sowonl nach 12 Stunden als auch nach 24 Stunden nachweisbar.

3. Auch eine stufenweise Eingewöhnung der Kaninchenaugen an die Contact-Linsen bis zu 24 Stunden hat keinen Einfluß auf die Veränderungen von Metabolitkonzentrationen in Epithel und Stroma, Erosionen werden aber durch Eingewöhnung verhindert oder sind wenigstens viel seltener.

4. Unter einem künstlichen Epithel ist bei Kaninchen die Glucosekontentration im Stroma unverändert. Der Lactatgehalt fällt nach der gleichen Zeit signifikant ab, während der Wassergehalt des Stromas um 5, 7% zunimmt.

5. Die Ergebnisse unterstützen die Theorie, daß die Hornhaut die Glucose für ihren energieliefernden Stoffwechsel aus dem Kammerwasser bezieht und umgekehrt Milchsäure als Stoffwechselendprodukt ins Kammerwasser abgibt.

Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BTS	Brenztraubensäure = Pyruvat
E	Erosion
EDTA	Äthylendiaminotetraessigsäure
G	Glucose
G-6-P	Glucose - 6 - phosphat
G-6-PDH	Glucose - 6 - phosphatdehydrogenase
HK	Hexokinase
KA	Kontrollauge
L	Lactat
L. a.	Lactat abgezogen
LA	Linkes Auge
LDH	Lactatdehydrogenase
m. G.	mit Gewöhnung
NAD	Nicotinamid-adenin-dinucleotid oxydiert
NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid reduziert
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat oxydiert
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat reduziert
o. G.	ohne Gewöhnung
6-PG	6 - Phosphogluconat
RA	Rechtes Auge
TRAP	Triäthanolamin-Puffer

Tabellarischer Anhang

Tabelle I:

Hornhautepithel nach Abrasio in vivo (Wärmeabradat)

Lfd.Nr.	Kan.Nr.	Auge	Glucose	Lactat	Bemerkungen
1	10	LA	2, 33	17, 0	Lactat abgezogen
2	11	RA	5, 03	21, 9	"
3	16	LA	1, 92	19, 7	"
4	19	RA	2, 28	21, 7	"
5	12	RA		16, 2	Leerwert kein Lactat
6	22	RA	2, 34	16, 5	Lactat abgezogen
7	13	RA	2, 08	12, 4	"
8	14	LA	1, 46	20, 7	"
9	15	RA	2, 64	22, 8	"
10	21	RA	4, 23	21, 0	"
11	A	LA + RA	2, 67	18, 2	"

Tabelle II:

Hornhautepithel unter Contact-Linsen

1. nach 12 Stunden ohne Gewöhnung

Lfd.Nr.	Kan.Nr.	Auge	Glucose	Lactat	Pyruvat	Bemerkungen
1	5	LA		16, 6		Erosion
2	5	RA		27, 2		keine Erosion
3	7	LA		26, 8		Erosion
4	7	RA		27, 5		Erosion
5	10	RA	2, 60	28, 0		kl. Erosion Lac. abgezogen
6	11	LA	4, 06	25, 7		sehr kl. E. L. abgez.
7	16	RA	1, 37	30, 4		zentral kl. E. L. abgez.
8	19	LA	1, 21	21, 1		kl. E. L. abgez.

2. nach 24 Stunden ohne Gewöhnung

9	2	LA + RA	1, 03	17, 9	0, 10	LA kl. Erosion RA Epi. sehr dünn
10	4	LA		30, 1		Erosion
11	8	RA		31, 7		große Erosion
12	12	LA		21, 0		zentral gr. E.

3. nach 48 Stunden ohne Gewöhnung

13	3	LA + RA	2, 86	26, 4	0, 47	LA zahlreiche kl. E. RA vereinz.

4. nach 24 Stunden mit Gewöhnung

14	6	LA + RA		36, 5		BH gerötet, aber keine Erosionen
15	13	LA	1, 29	22, 0		sehr kl. E. L. a.
16	14	RA		26, 6		keine E. L. a.
17	15	LA		27, 9		zentral E. L. a.
18	21	LA	2, 28	24, 0		keine E. L. a.

Tabelle III:

Normales Hornhautstroma nach Epithelabrasio

Lfd.Nr.	Kan.Nr.	Auge	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P	Bemerkungen
1	10	LA	6, 18	4, 89	0, 250	19, 6	L. abgez.
2	16	LA	3, 46	9, 71	0, 327	29, 6	L. abgez.
3	17	LA	3, 08	9, 23	0, 175	52, 7	L. a.
4	18	LA	3, 48	8, 54	0, 249	34, 3	L. a.
5	19	RA	4, 11	7, 98	0, 464	17, 0	L. a.
6	12	RA	3, 67	7, 97	0, 208	38, 3	
7	13	RA	3, 47	5, 61	0, 340	16, 5	L. a.
8	14	LA	3, 11	7, 03	0, 320	21, 9	L. a.
9	15	RA	3, 10	10, 09	0, 140	72, 0	L. a.
10	20	RA	3, 99	5, 65	0, 232	24, 8	L. a.
11	A	LA	3, 75	7, 22	0, 240	30, 1	L. a.
12	A	RA	4, 64	8, 02	0, 360	22, 3	L.a.
13	I	RA	3, 27	8, 07	0, 354	22, 5	
14	II	RA	4, 25	8, 11	0, 295	27, 3	
15	IV	RA	4, 45	7, 85	0, 248	27, 3	KA.künstl.E.
16	V	RA	4, 36	8, 63	0, 197	43, 7	KA.künstl.E.
17	VII	RA	5, 07	8, 08	0, 178	45, 4	KA.künstl.E.
18	VIII	RA	3, 59	7, 28	0, 363	20, 0	KA.künstl.E.
19	IX	RA	3, 48	9, 01	0, 592	15, 2	KA.künstl.E.
20	X	RA	3, 49	8, 40	0, 218	38, 5	KA.künstl.E.
21	XI	RA	2, 89	7, 69	0, 198	38, 8	KA.künstl.E.
22	XII	RA	3, 03	8, 95	0, 213	42, 0	KA.künstl.E.
23	XIII	RA	3, 03	7, 06	0, 254	27, 8	KA.künstl.E.
24	XIV	RA	2, 67	7, 49	0, 106	70, 1	KA.künstl.E.
25	XV	RA	3, 26	7, 70	0, 253	30, 4	KA.künstl.E.
26	22	RA	4, 06	6, 21	0, 193	32, 2	L. a.

Tabelle IV:

Stroma unter Contact-Linsen

1. nach 12 Stunden ohne Gewöhnung

Lfd.Nr.	Kan.Nr.	Auge	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P	Bemerkungen
1	5	LA	1, 93	16, 20	0, 105	154, 3	
2	5	RA	2, 40	8, 74	0, 140	58, 3	
3	10	RA	4, 07	9, 93	0, 210	47, 3	L. a.
4	11	LA	4, 76	9, 11	0, 274	32, 8	L. a.
5	16	RA	2, 86	13, 00			L. a.
6	17	RA	2, 88	9, 91			L. a.
7	18	RA	3, 73	11, 80	0, 355	35, 2	L. a.
8	19	LA	3, 55	10, 09	0, 418	24, 1	L. a.
9	7	LA	2, 57	11, 10			
10	7	RA	3, 23	8, 61	0, 179	47, 5	

2. nach 24 Stunden ohne Gewöhnung

11	2	LA + RA	3, 99	9, 40	0, 186	50, 1	
12	4	LA	2, 34	9, 97	0, 450	22, 2	
13	8	RA	2, 87	10, 50	0, 210	50, 0	
14	12	LA	3, 15	9, 95			
15	22	LA	2, 73	8, 33	0, 337	24, 8	L. a.

3 nach 48 Stunden ohne Gewöhnung

16	1	RA	3, 66	9, 64	0, 248	38, 8	
17	3	LA + RA	2, 33	11, 40	0, 183	62, 4	

4. nach 24 Stunden mit Gewöhnung

18	6	LA	2, 79	10, 80	0, 704	15, 3	
19	6	RA	3, 46	11, 27			
20	9	LA	2, 29	9, 83	0, 185	53, 1	L. a.
21	9	RA	1, 78	9, 59	0, 190	50, 5	L. a.
22	13	LA	4, 25	8, 01	0, 387	20, 7	L. a.
23	14	RA	2, 26	11, 83	0, 431	27, 2	L. a.
24	15	LA	2, 75	12, 60	0, 450	28, 0	L. a.
25	20	LA	2, 23	10, 03	0, 186	53, 8	L. a.
26	21	LA	3, 88	8, 35	0, 373	22, 4	

Tabelle V:

Stroma unter "künstlichem Epithel"

Lfd.Nr.	Kan.Nr.	Glucose	Lactat	Pyruvat	L/P
1	IV	4, 55	7, 13	0, 286	24, 9
2	V	3, 00	7, 99	0, 118	67, 7
3	VII	4, 82	6, 13	0, 207	29, 6
4	VIII	3, 40	8, 26	0, 204	40, 5
5	IX	3, 87	6, 56	0, 357	18, 3
6	X	4, 36	6, 61	0, 330	20, 0
7	XI	3, 74	7, 59	0, 276	27, 5
8	XII	2, 50	6, 51	0, 165	39, 4
9	XIII	3, 72	7, 18	0, 227	31, 6
10	XIV	3, 15	6, 21	0, 230	27, 0
11	XV	2, 88	7, 00	0, 242	28, 9

Immer LA

Tabelle VI:

Hydratationswerte des Hornhautstromas

Lfd.Nr.	normal	Contact-Linse	künstliches Epithel
1	3, 84	4, 42	4, 86
2	3, 58	4, 81	5, 54
3	3, 77	4, 34	5, 11
4	3, 68	4, 12	4, 93
5	3, 27	4, 32	4, 57
6	3, 77	4, 67	5, 25
7	3, 67	4, 02	4, 92
8	3, 51	4, 27	4, 65

Tabelle VII:

Wassergehalt des Hornhautstromas in %

Lfd.Nr.	normal	Contact-Linse	künstliches Epithel
1	79, 3	81, 6	82, 4
2	78, 1	82, 8	84, 6
3	79, 1	81, 3	83, 7
4	78, 7	80, 5	83, 1
5	78, 8	81, 2	82, 1
6	79, 0	82, 4	84, 0
7	78, 6	80, 1	83, 1
8	77, 9	81, 1	82, 3

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. BURNS, R. P., H. ROBERTS and L. F. RICH:

   Effect of silicone contact-lenses on corneal epithelial metabolism.

   Amer. J. Ophthal. 71; 486 (1971)

2. CALMETTES, L., F. DEODATI, H. PLANEL und P. BEC:

   Etude histologique et histochemique de l'epithelium anterieur de la cornée et de ses basales.

   Arch. Ophthal. (Paris) 16; 481 (1956)

3. DAVSON, H.:

   The hydratation of the cornea.

   Biochem. J. 59; 24 (1955)

4. DAVSON, H.:

   The Eye, Bd. 1
   Vegetative physiology and biochemistry.

   Academic Press London - New York (1962)

5. DELBRÜCK, A.:

   Enzymverteilungsmuster gefäßloser Gewebe.

   Klin. Wschr. 41; 488 (1963)

6. DOANE, M. G. and C. H. DOHLMAN:

   Physiological response of the cornea to an artificial epithelium.

   Exptl. Eye Res. 9; 158 (1970)

7. DOHLMAN, C. H.:

The function of the corneal epithelium in health and disease.

Invest. Ophthal. 10; 383 (1971)

8. DOHLMAN, C. H., A. R. GASSET and J. ROSE:

The effect of the absence of the corneal epithelium or endothelium on the stromal keratocytes.

Invest. Ophthal. 7; 520 (1968)

9. DOHLMAN, C. H., P. PAYRAU and Y. POULIQUEN:

L'application des lentilles de contact à l'aide de substances adhésives

Arch. Ophthalmol. (Paris) 28; 533 (1968)

10. DOHLMAN, C. H., M. F. REFOJO, J. M. CARROL and A. R. GASSET:

Artificial corneal epithelium

Arch. Ophthalmol. (Chikago) 79; 360 (1968)

11. DONN, A., D. M. MAURICE and N. L. MILLS:

Studies on the living cornea in vitro. II: The active transport of sodium across the epithelium.

Arch. Ophthal. (New York) 62; 741 (1959) zit. von MAURICE in The Eye, edit. DAVSON Academic Press London, New York (1962) 332

12. DUANE, T. D.:

The steady state of corneal hydratation.

Amer. J. Ophthal. 32; 203 (1949)

13. FATT, I.:

Steady-state distributation of oxygen and carbon dioxide in the in vivo cornea. II: The open eye in nitrogen and the covered eye
Exptl. Eye Res. 7; 413 (1968)

14. FATT, I.:

Oxygen tension under a contact lens during blinking

amer. J. Ophthal. 46; 654 (1969)

15. FATT, I. and M. T. BIEBER:

The steady-state distribution of oxygen and carbon dioxide in the in vivo cornea. I: The open eye in the air and the closed eye.

Exptl. Eye Res. 7; 103 (1968)

16. FISCHER, F. P.:

Der Mineralbestand des Auges.

Arch. Augenheilkunde 107; 295 (1933)

17. GASSET, A. R. and H. E. KAUFMAN:

Epikeratoprosthesis: Replacement of superficial cornea by methyl methacrylate.

Amer. J. Ophthal. 66; 641 (1968)

18. GREEN, K.:

Anatomic study of water movement through the rabbit corneal epithelium.

Amer. J. Ophthal. 67; 110 (1969)

19. HALE, P. N. and D. M. MAURICE:

Sugar transport across the corneal endothelium.

Exptl. Eye Res. 8; 205 (1969)

20. HARA, T.:

Studies on the water and cation shift of the stored cornea.

Jap. J. Ophthal. 9; 161 (1969)

21. HARRIS, J. E.:

The physiologic control of the corneal hydration.

Amer. J. Ophthal. 44; 262 (1957)

22. HARRIS, J. E.:

Transport of fluid from the cornea.
in: The transparency of the cornea. edit: DUKE-ELDER, W. S. and E. S. PERKINS

Blackwell Oxford (1960)

23. HARRIS, J. E. and L. T. NORDQUIST:

The hydration of the cornea.
I. The transport of water from the cornea.

Amer. J. Ophthal. 40; 100 (1955)

24. HEALD, K. and M. E. LANGHAM:

Permeability of the cornea and the blood-aqueous barrier to oxygen.

Brit. J. Ophthal. 40; 705 (1956)

25. HERRMANN, H. and F. H. HICKMAN:

Exploratory studies on corneal metabolism.

Bull. Johns Hopk. Hosp. 82; 225 (1948)

26. HILL, R. M. and I. FATT:

Oxygen uptake from a limited reservoir by human cornea in vivo.

Science, 142; 1295 (1963)

27. HILL, R. M. and I. FATT:

Oxygen deprivation of the cornea by contact-lenses and lid closure.

Amer. J. Optom. 41; 678 (1964)

28. HOHORST, H. J., F. KREUTZ und T. BÜCHER:

Über Metabolitgehalt und Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte.

Biochem. Z. 332; 118 (1959)

29. HOHORST, H. J., F. KREUTZ und M. REIM:

Steady state equilibria of some DPN-linked reactions and the oxidation/reduction state of the DPN/DPNH system in the cytoplasmatic compartment of liver cells in vivo.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 4, 159 (1961)

30. HOHORST, H. J., M. REIM und H. BARTELS:

Equilibria of two partner reactions of energy supplying metabolism in muscle.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 7, 137 (1962)

31. JAKUS, M. A.:

The fine structure of the human cornea.
In: The structure of the eye, edit:
SMELSER, G. K.

Academic Press London, New York 1961 S. 334

32. KAUFMAN, H. E. and A.R. GASSET:

Clinical experience with the keratoprosthesis.

Amer. J. Ophthal. 67; 38 (1969)

33. KAYE, G. I.:

Stereologic measurements of cell volume fraction of rabbit corneal stroma.

Arch. Ophthal. - Vol. 82 Dez. 1969

34. KINOSHITA, J. H. and T. MASURAT:

The direct oxydative carbohydrate cycle of bovine corneal epithelium.

Arch. Biochem. 53; 9 (1954)

35. KINOSHITA, J. H. and T. MASURAT:

Aerobic pathways of glucose metabolism in bovine corneal epithelium.

Amer. J. Ophthal. 48; 47 (1959)

36. KUHLMAN, R. E. and R. A. RESNIK:

The oxidation of C^{14}-labeled glucose and lactate by the rabbit cornea.

Arch. Biochem. 85; 29 (1959)

37. LANGHAM, M. E.:

Utilization of oxygen by the component layers of the living cornea.

J. Physiol. 117; 461 (1952)

38. LANGHAM, M. E.:

Glycolysis in the cornea of the rabbit.

J. Physiol. 126; 396 (1954)

39. LANGHAM, M. E.:

Corneal metabolism and its influence on corneal hydration in the excised eye and in the living animal.
In: The transparency of the cornea. edit: DUKE-ELDER, W. S. und E. S. PERKINS

Blackwell Oxford 1960

40. LANGHAM, M. E. and I. S. TAYLOR:

Factors affecting the hydration of the cornea in the excised eye and the living animal.

Brit. J. Ophthal. 40; 321 (1956)

41. LE CONTACT

Technische Operationsreihe für Contact-optik.

Deutsche Ausgabe Nr. 3; 4, Februar 1965

42. MANDELL, R. B., K. A. POLSE and I. FATT:

Corneal swelling caused by contact-lens wear.

Arch. Ophthal. 83; 3 (1970)

43. MAURICE, D. M.:

The structure and transparency Of the cornea.

J. Physiol. 136; 263 (1957)

44. MAURICE, D. M.:

The permeability of the cornea. in: The transparency of the cornea. edit: DUKE-ELDER, W. S. and E. S. PERKINS

Blackwell Oxford 1960

45. MAURICE, D. M.:

The cornea and sclera. in: The Eye. edit: DAVSON, H., Bd. I

Academic Press, New York/London 1962

46. MAURICE, D. M.:

The movement of fluorescin and water in the cornea

Amer. J. Ophthal. 49; 1011 (1960)

47. MAURICE, D. M.:

The chemical and physical basis of corneal transparency.
in: Biochemistry of the Eye. Symp. Tutzing Castle; 51 (August 1966)

KARGER-Verlag Basel/New York (1968)

48. MAURICE, D. M.:

Nutritional aspects of corneal grafts and protheses. in: Corneo-plastic surgery; Proc. Second Int. Corneo-Plastic Conf. London; S. 197

Pergamon Press; Oxford/New York (1969)

49. MAURICE, D. M. and A. GUARDINI:

Swelling of the cornea in vivo after the destruction of its limiting layers.

Brit. J. Ophthal. 35; 791 (1951)

50. MAURICE, D. M. and M. V. RILEY:

The cornea, in Graymore, C. N., edit: Biochemistry of the eye

New York und London 1970, Academic Press, Inc.

51. MISHIMA, S. and B. O. HEDBYS:

The permeability of the corneal epithelium and endothelium to water.

Exptl. Eye Re . 10; 6 (1967)

52. MISHIMA, S. and T. KUDO:

In vitro incubation of rabbit cornea

Invest. Ophthal. 6; 329 (1967)

53. MORLEY, N. and C. McCHULLOCH:

Corneal lactate and pyridine nucleotides (PNS) with contact-lenses.

Arch. Ophthal. 66; 113 (1961)

54. MORLEY, N. H. and A. TOTH:

Oxidized pyridine nucleotides and lactat acid in the corneal tissue of rabbits.

Canad. J. Biochem. 39; 477 (1961)

55. PEDLER, C.:

The fine structure of the corneal epithelium.

Exptl. Eye Res. 1; 286 (1962)

56. POLSE, K. A. and R. B. MANDELL:

Critical oxygen tension at the corneal surface.

Arch. Ophthal. 84; 505 (1970)

57. REIM, M.:

Über das Verhalten einiger Metabolite in der Tränendrüse von Kaninchen bei Ischämie.

Albert v. Graefes Arch. Ophthal. 167; 549 (1964)

58. REIM, M.:

Untersuchungen über Enzymaktivitäten und Metabolitgehalte des energieliefernden Stoffwechsels in der Hornhaut.

Habil. Schrift. Marburg 1966

59. REIM, M., H. CATTEPOEL, K. BITTMANN und H. KILP:

Methodische und physiologische Aspekte bei der statistischen Auswertung von Metabolitspiegeln in verschiedenen Kompartimenten der vorderen Augenabschnitte.

Graefes Arch. Ophthal. 177; 355 (1969)

60. REIM, M., F. LAX, H. LICHTE und R. TURSS:

Steady-state levels of glucose in the different layers of the cornea, aqueous humor, blood and thears in vivo.

Ophthalmologica 154; 39 (1967)

61. REIM, M. und H. LICHTE:

Beziehung zwischen Energiestoffwechsel und Hornhauttrübung.

Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. 168; 365 (1965)

62. REIM, M. und D. MEYER:

Über Veränderungen von Metabolitgehalten im Corneaepithel in Anaerobiose.

Graefes Arch. Ophthal. 174; 103 (1967)

63. REIM, M., F. SCHMIDT und D. MEYER:

Die Metabolite des energieliefernden Stoffwechsels im Hornhautepithel verschiedener Säugetiere.

Ber. dtsch. Ophthal. Ges. S. 164
(J. F. Bergmann, München 1966)

64. RILEY, M. V.:

Glucose and oxygen utilization by the rabbit cornea.

Exptl. Eye Res. 8; 193 (1969)

65. ROETTH, A. de:

Respiration of the cornea.

Arch. Ophthal. 44; 666 (1950)

66. ROETTH, A. de:

Glycolytic activity of the cornea.

Arch. Ophthal. 45; 139 (1951)

67. ROHEN, J. W.

Das Auge und seine Hilfsorgane. Handbuch der mikroskop. Anatomie des Menschen, Bd. III: Haut und Sinnesorgane, 4. Teil

Springer-Verlag 1964

68. SCHMIDT, F. W.

Der Metabolitgehalt von Epithel und Stroma der Kaninchencornea und seine Veränderungen unter verschiedenen experimentellen Bedingungen.

Inaug. Diss. Marburg 1967

69. SMELSER, G. K.

Relation of factors involved in maintenance of optical properties of cornea to contact-lens wear.

Arch. Ophthal. 47; 328 (1952)

70. SMELSER, G. K. and D. K. CHEN:

Physiological changes in the cornea induced by contact lenses

Arch. Ophthal. 53; 676 (195

71. SMELSER, G. K. and V. OZANICS:

Importance of atmospheric oxygen for maintenance of the optical properties of the human cornea.

Science 115; 140 (1952)

72. SMELSER, G. K. and V. OZANICS:

Structural changes in the cornea of guinea pigs after wearing contact lenses.

Arch. Ophthal. 49; 335 (1953)

73. STRAUBESAND, J.:

Zum Feinbau des Cornea-Endothels

Verh. Anat. Ges. 57 Verlag Hamburg 1961 b, Erg.-Bd Anat. Anz. 3; 394 (1962)

74. TAKAHASHI, G. H. and I. FATT:

The diffusion of oxygen in the cornea.

Exptl. Eye Res. 4; 4 (1965)

75 . TURSS, R., J. Friend and C. H. DOHLMAN:

Effect of a corneal fluid barrier on the nutrition of the epithelium.

Exptl. Eye Res. 9; 254 (1970)

76 . TURSS, R., J. FRIEND, M. REIM and C. H. DOHLMAN:

Glucose concentration and hydration of the corneal stroma.

Ophthalmic Research

Meinem Correferenten, Herrn Professor Dr. med. W. Straub, Direktor der Augenklinik der Philipps-Universität Marburg, danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes in seiner Klinik.

Für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Labor und Unterstützung danke ich meinem Referenten, Herrn Professor Dr. med. M. Reim.

Ganz besonders möchte ich Herrn Dr. med. Turss für die Themenstellung, seine Hilfe und Anleitung danken.

Der biologisch-technischen Assistentin Frau H. Cattepoel danke ich für ihre Assistenz.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Marburg:

Beckmann, Behrendes, Bommer, Buchholz, Daume, Dimroth, Dölle, Drawert, Friederich, **Golenhofen, Graul, Hamel-**mann, Hamm, Hardewig, Hensel, Heuser, Hort, Hupe, Jacob, Karlsón, Kessel, Korb, Koransky, Linneweh, Mann, Martini, Mattes, Meyer-Bertenrath, Petry. Reim, Rohen, Rodeck, Schermuly, Schleyer, Schmidt, Schmitz-Moormann, Siegert, v. Stosch, Straub, Uhlarik, Voss, Zilliken

in Innsbruck:

Hayek, Murr, Steinmaurer, Stöhr, Thummer

in München:

Autrum, Bachmann, Brauner, Dane, Dingler, Faessler, Jabuls, v. Lanz, Nöth, Wiberg

L e b e n s l a u f :

Am 30. Januar 1943 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Helmut Schulz-Lauterbach und seiner Ehefrau Friedel geb. Rindermann in Tegernsee geboren.

Vom September 1949 bis Herbst 1953 besuchte ich die Volksschule in Gmund a. Tegernsee. Von 1953 bis 1964 war ich Schülerin des Gymnasiums mit Oberrealschule in Tegernsee mit abschließendem Abitur am 22.7.1964.

Im Wintersemester 1964/65 begann ich mit dem Biologie-Studium an der Philipps-Universität Marburg, das ich im Wintersemester 1965/66 in Innsbruck und im Sommersemester 1966 in München fortsetzte.

Seit dem Wintersemester 1966/67 studiere ich in Marburg Medizin. Hier bestand ich am 15.3.1967 das Vorphysikum und am 26.3.1969 das Physikum.

Während der Semesterferien famulierte ich in der Medizinischen Klinik und in der Augenklinik der Philipps-Universität Marburg/Lahn.

Am 31. Juli 1972 bestand ich an der Philipps-Universität Marburg das medizinische Staatsexamen.

Seit 3. April 1970 bin ich verheiratet mit Dr. rer. pol. Jürgen Schebitz.